

ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットにおける血管障害

著者	鎌田 勝雄
雑誌名	星薬科大学紀要
号	38
ページ	9-17
発行年	1996
URL	http://id.nii.ac.jp/1240/00000094/

ストレプトゾシン誘発糖尿病ラットにおける血管障害

鎌 田 勝 雄

星薬科大学 医薬品化学研究所 機能形態研究室

Vascular disease in streptozotocin-induced diabetic rats

Katsuo KAMATA

Department of Physiology and Morphology, Institute of Medicinal Chemistry, Hoshi University

1. はじめに

現在我が国では約 600 万人の糖尿病患者がいると考えられ、特に 40 歳以上の国民ではその 10 人に 1 人が糖尿病であるといわれている。このように国民病化した糖尿病は失明や尿毒症などの原因となるばかりでなく、脳梗塞や心筋梗塞を引き起こす原因になる。糖尿病には、小児や若い人に多いインスリン依存型糖尿病 (IDDM) と中高年に多いインスリン非依存型糖尿病 (NIDDM) の 2 つのタイプがある。日本人の糖尿病のほとんど (約 95%) は後者である。IDDM は膵臓のランゲルハンス島が破壊され、インスリンを全く分泌することができなくなる糖尿病であり、NIDDM はインスリンの分泌量が低下しているかインスリン受容体の感受性が低下している糖尿病である。糖尿病では、インスリン作用の低下のため食事として摂取したブドウ糖が筋肉などの細胞に入っていくにくくなるため、細胞内でエネルギー不足をきたし、また、ブドウ糖はそのまま血液中にとどまり血糖が高くなり尿の中に糖があふれ出るようになる。また、ブドウ糖などの糖質だけでなく蛋白質や脂質の利用まで障害されることが知られている。これらの結果、高血糖、高脂血症 (血液中の脂肪が異常に増加した状態) となり、それらにより血管や神経が障害され種々の合併症を誘発する。

糖尿病の症状としては、高血糖によるのどのかわき・多飲・多尿、また細胞のエネルギー不足による体のだるさ・体重減少などが現れるが、無症状のまま進行することもある。糖尿病の治療における最終目標は、慢性合併症の発症および進展防止である。糖尿病性慢性合併症はさまざまなものがあるが、なかでも網膜症、腎症、神経症の三つは特に重要なことから、糖尿病の三大合併症とよばれる。例えば糖尿病が原因で失明する患者が年間 3000 人いると報告されている。これらの合併症に共通して観察される病理学的な特徴は細小血管障害である。また、糖尿病では大血管障害の頻度も著しく高く、その主要な症候は冠動脈、脳動脈、下肢動脈のアテローム性動脈硬化の結果として生じるが、アテローム性動脈硬化以外の因子や細小血管障害も関与している可能性がある。

1980 年の Nature 誌上、循環系の研究において革命的な論文が発表された¹⁾。薬理学者の Furchgott はウサギ大動脈のリング標本を用いて acetylcholine (ACh) による収縮反応を観察していたが、テクニシャン (Zawadzki) が間違っただけで彼の指示どおりに行わなかった結果、逆に弛緩反応が生じた。ラセン標本では収縮が起こるのにリング標本では弛緩が起こるという ACh の奇異な作用はラセン標本の作製の際に内膜が障害されたためではないかと考えた。そこで大動脈の正常内膜を保持した標本と内膜を除去した標本とを比較した

ところ、ACh は内膜存在下でのみ見事な弛緩反応を引き起こした。やはり、彼の科学者としての鋭い観察力と実験結果をアーチファクトとして片付けず、その原因を執拗に探究する態度が内皮細胞由来弛緩因子 (endothelium-derived relaxing factor: EDRF) の発見につながったといえよう。EDRF が亜硝酸系物質であろうということはいくつかの状況証拠によって推定されていたが、あまりにもその生物学的半減期が短く、不安定な物質のため、化学的同定は困難をきわめていた。しかし、その突破口は意外に免疫学者が見い出していたマクロファージが生成する一酸化窒素 (nitric oxide: NO) の合成阻害薬である L-アルギニン誘導体 (L-NMMA) の存在であった。EDRF の生成は L-NMMA によって抑制されることから、マクロファージと同様に EDRF は L-アルギニンを基質として生成されることが示された。同時に薬理学者の Moncada らの卓越した研究によって ACh やブラジキニンで刺激される EDRF が NO であることを化学発光法を用いて見事に証明した²⁾。NO は血管の拡張作用やマクロファージの cytotoxic な作用とは別に、神経生理学者からはシナプス間の神経伝達物質 (順行性および逆行性伝達物質) としての役割に熱い注目が注がれている。今後は NO の果たす生理的および病態生理学的役割が重要な課題である。脳での学習や記憶、免疫系での抗腫瘍や抗菌作用、心血管系での血管トーンスの制御、ホルモン分泌、消化管の蠕動運動、陰茎の勃起作用など多岐にわたる NO の生理機能の研究はまさに臓器を超えて基礎研究の対象となっている。同時に虚血や炎症性の組織障害や出血、高血圧、動脈硬化、敗血症性ショック、幽門狭窄、インポテンツなどの病態生理に NO がどのように関わっているか、今後の研究の展開が期待される。

運よく、著者が糖尿病の研究を始めた段階では、糖尿病動物の血管内皮細胞の機能変化に関する論文はほとんどなかった。そこで、膵臓のランゲルハンス島の β 細胞を特異的に破壊して糖

尿病を誘発するといわれている streptozotocin (STZ) を投与して実験的糖尿病ラットを作成し、糖尿病時における合併症に焦点を当て、血管 (特に、内皮細胞) の機能変化を検討することにより、合併症の発症機構の一端を明らかにすることを目的とした。

2. 実験的あるいは自然発症糖尿病動物の血管における内皮細胞の変化^{3~18)}

実験的糖尿病はウイスター系雄性ラット (8 週齢) に STZ (60 mg/kg, i.v.) を投与し、8 週間後に実験に用いた。対照群としては同週齢のラットを用いた。対照群の使用時の体重は 500.5 ± 4.8 g、血糖値は 158.2 ± 9.7 mg/dl であったが糖尿病群の使用時の体重は 221.3 ± 3.1 g、血糖値は 607.8 ± 13.4 mg/dl であった。ラットの胸部大動脈を摘出し、ラセン条片を作製した後、organ bath に懸垂し、収縮弛緩反応を等尺性に記録した。Norepinephrine によって一定のトーンスを維持させた後、ACh, atrial natriuretic peptide (ANP), sodium nitroprusside (SNP) をそれぞれ投与すると、ACh による弛緩反応のみが糖尿病動物において著明に減弱していたが、ANP あるいは SNP による弛緩反応は糖尿病動物では変化がなかった。ACh は上述したように、内皮細胞上のムスカリニック受容体に結合し、内皮細胞内において NO を産生し、産生された NO は平滑筋内に移行し、可溶性グアニル酸シクラーゼを活性化し、cyclic GMP を産生して平滑筋を弛緩させる。一方、ANP は平滑筋膜受容体上に存在する ANP 受容体に結合し、G タンパクを介して膜結合性のグアニル酸シクラーゼを活性化し、cyclic GMP を産生して平滑筋を弛緩させる薬物であり、SNP は細胞質内の可溶性グアニル酸シクラーゼを活性化し、cyclic GMP を産生して平滑筋を弛緩させる薬物である。ACh による弛緩反応のみが糖尿病動物において著明に減弱したことから、糖尿病動物の血管では平滑筋における弛緩機構に変化はなく、内皮細胞における NO の産生機能が障害さ

Table 1 IC₅₀ values for acetylcholine (ACh)-, atrial natriuretic peptide (ANP)- and sodium nitroprusside (SNP)- induced relaxation of aortic strips from age-matched control and diabetic rats

Drugs	Control	Diabetic
ACh	$4.57 \pm 0.67 \times 10^{-8} \text{ M}$	$1.00 \pm 0.87 \times 10^{-7} \text{ M}^*$
ANP	$3.51 \pm 0.83 \times 10^{-9} \text{ M}$	$4.53 \pm 0.69 \times 10^{-9} \text{ M}$
SNP	$3.46 \pm 0.66 \times 10^{-9} \text{ M}$	$4.30 \pm 0.60 \times 10^{-9} \text{ M}$

Values are mean \pm S.E.; $n=6$ animals.

* Statistically different from age-matched control ($P<0.05$).

Table 2 Basal and acetylcholine (ACh)-induced production of cyclic GMP in aortic strips from age-matched control and diabetic rats

Agents	Control cyclic GMP (pmolmg ⁻¹ protein)	Diabetic cyclic GMP (pmolmg ⁻¹ protein)
None	7.46 ± 2.02	$1.28 \pm 0.72^*$
NA (10^{-7} M)	7.30 ± 0.58	$3.56 \pm 1.13^*$
NA (10^{-7} M) + ACh (10^{-5} M)	43.88 ± 4.50	$21.10 \pm 1.32^{**}$

Values are mean \pm S.E.; $n=4$ animals. Significantly different from age-matched control,

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, NA = noradrenaline.

れていることが明らかとなった。次に、血管内の cyclic GMP 含量を測定してみた。対照群において、刺激薬が存在しない状態でもわずかな cyclic GMP 含量が検出できた。このことは、内皮細胞において常時わずかな NO が産生され、その NO が cyclic GMP を産生していることを示唆する。ところが、糖尿病群ではこの basal な cyclic GMP 含量が有意に減弱していたことから、内皮細胞の機能低下を強く示唆する。また、ACh の刺激によって産生される cyclic GMP 含量も著明に減弱していたことから、上記した弛緩反応の結果を生化学的に裏付けたことになる (Tables 1, 2)。以上はラット胸部大動脈を用いた研究結果であるが、ほとんど同様な成績がラット腸間膜動脈床、ラット腎血管動脈床、ラット脳底動脈、マウス大動脈、ウサギ大動脈、ウサギ脳底動脈においても得られた。つまり、内皮細胞依存性弛緩反応の減弱はほとんどの血管、また種を超えた共通の現象であることが確認できたことになる。以上は *in vitro* の実験であるが、*in vivo* の実験においても

同様な結果が得られた。ラットの血圧を観察しながら、ACh あるいは血小板活性化因子 (PAF) を静注すると、血圧は用量に依存して下降するが、この降圧反応は糖尿病動物において著明に減弱していることを確認した (Fig. 1)。さらに NO 合成酵素の阻害剤である L-NAME を投与すると、昇圧反応が観察されるが、この昇圧反応は糖尿病動物において著明に減弱していることから (Fig. 2)、これらの実験においても糖尿病動物の内皮細胞における NO 合成能が著明に低下していることを強く示唆する。これらのことを生化学的に裏付けるため、血圧を直接反映と言われる腸間膜動脈床内の cyclic GMP 含量を測定すると、糖尿病動物では、ACh 刺激による cyclic GMP 合成能が著明に減弱していた (Fig. 3)。このことは細小血管における内皮細胞の機能が著明に低下していることを強く証明するものである。STZ あるいはアロキサンによって誘発された糖尿病動物はインスリン依存型糖尿病のモデルになることから次に、インスリン非依存型糖尿病のモデルに近いと

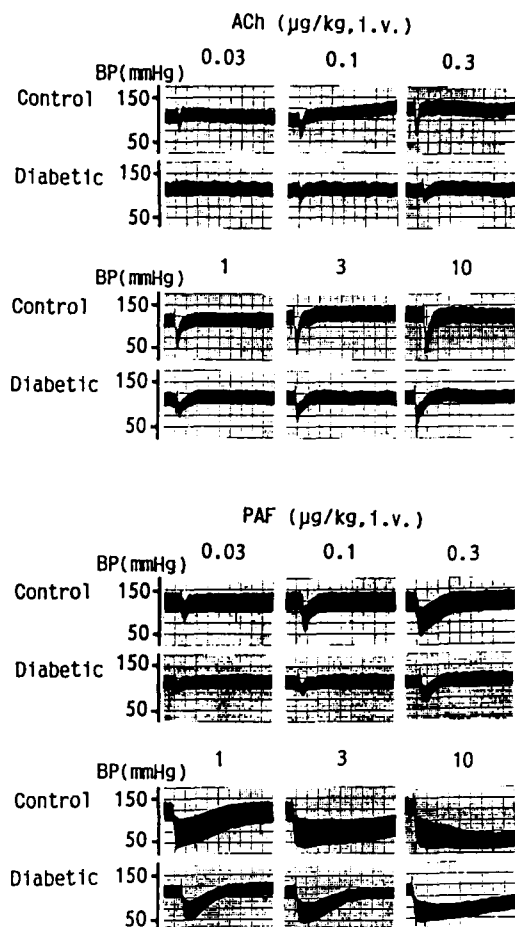


Fig. 1. A typical recording of changes in blood pressure (BP) produced by intravenous injection of ACh and PAF in anesthetized control and diabetic rats.

いえる自然発症糖尿病ラットの胸部大動脈、腸間膜動脈においてもほとんど STZ 誘発糖尿病ラットの場合と同様な結果（内皮細胞の機能低下）が得られたため、インスリン依存型糖尿病とインスリン非依存型糖尿病における共通した血管障害は内皮細胞の機能障害から始まると仮定してほぼ間違いないと考えられる。

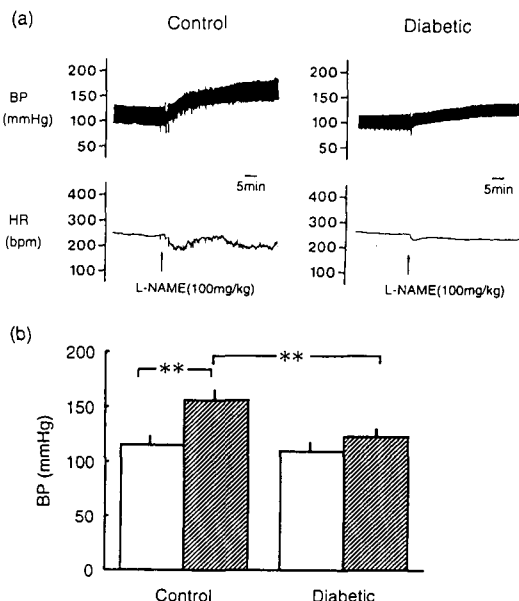


Fig. 2. Effect of L-NAME (100 mg/kg, i.v.) on blood pressure (BP) and heart rate (HR) in control and diabetic rats. (a) Trace is representative of 6 experiments, (b) columns represent BP of control and diabetic rats before (□) and after (▨) the injection of L-NAME. Each value represents the mean \pm S.E. of 6 animals. Significant differences were observed between the two groups (** $P < 0.01$).

3. コレスチラミン慢性投与後の内皮細胞機能の変化¹⁹⁻²²⁾

次に、糖尿病時における内皮細胞機能障害のメカニズムについて検討した。糖尿病動物では血糖値が高いこと、また血中 LDL コレステロールが著明に増加していることが特徴である。糖尿病時における内皮細胞機能障害は、血中に高濃度存在するブドウ糖そのものによるものか、血中 LDL コレステロールによるものかを検討した。コレスチラミンという薬物は、胆汁酸と結合する陰イオン交換樹脂で、経口吸収されないで、腸管内で胆汁酸と結合して大便中に排泄される。その結果、胆汁酸の再吸収を阻害することから、血中コ

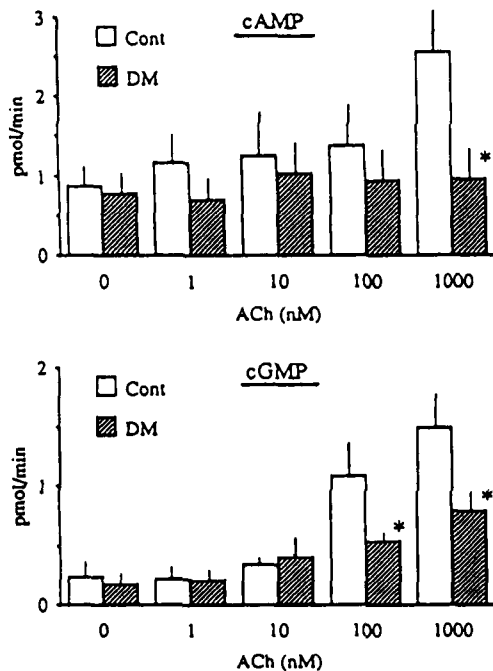


Fig. 3. Levels of cAMP and cGMP in the effluent from the mesentery preparation from control and diabetic rats. Each preparation was precontracted with 10–100 μ M methoxamine and relaxed with 1–1000 nM ACh. Each column represents the mean \pm S.E. of 5 to 6 preparations. Significant differences were observed between the two groups (* P < 0.05).

コレステロール濃度を低下させる (Fig. 4). 当然のことながら本薬物は血糖値には影響しない。そこで、糖尿病動物および糖尿病の対症病態として高脂血症動物にコレステラミンを慢性投与した後、内皮細胞の機能を観察した。コレステラミン慢性投与後は、内皮細胞依存性の弛緩反応は著明に改善され、同時に組織内 cyclic GMP 含量の低下がほぼ元のレベルまで回復した (Fig. 5)。糖尿病動物では正常食を与えているにもかかわらず、LDL コレステロールは著明に増加していたが、コレステラミンを慢性投与すると、ほぼ正常レベルまで回復したが、血糖値は減少しなかった (Fig. 6)。以

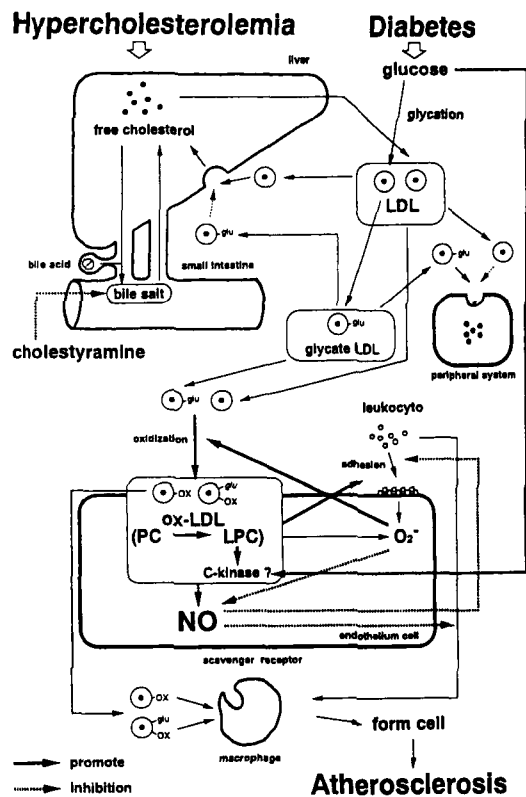


Fig. 4. Schematic representation of the mechanisms of atherosclerosis formation.

上の成績より、糖尿病時における内皮細胞の機能障害は血糖値の増加が直接内皮細胞の機能を障害するというより、血糖値が増加した結果、二次的にコレステロールの産生が増加し、それによって LDL コレステロールが増加し、この LDL が内皮細胞の機能障害、すなわち、NO 産生低下の原因となることが本研究によって初めて明らかにされたことになる。

では、糖尿病時に LDL が増加するとなぜ内皮細胞の機能が障害されるのだろうか。この疑問を解明するため、高脂血症に関する論文を参考にした結果、LDL は内皮細胞上で酸化されやすいこと、また酸化 LDL は lysophosphatidylcholine (LPC) を産生することがわかった。そこで、正常動物から得られた血管に LPC を与えた後、内皮

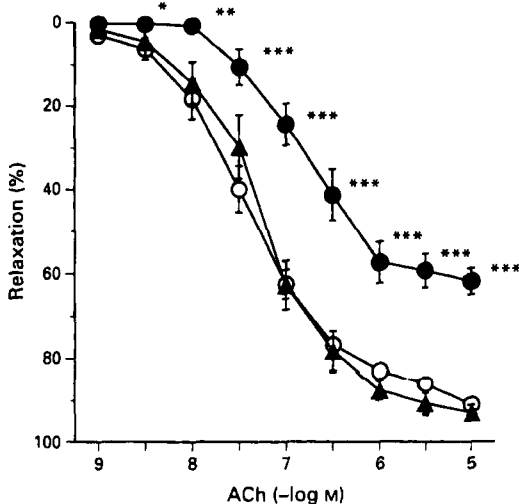


Fig. 5. Concentration-response curves for ACh-induced relaxation of aortic rings obtained from age-matched control mice, STZ-induced mice and STZ-induced mice given cholestyramine. The aortic rings were initially contracted with $\text{PGF}_{2\alpha}$ (10^{-6} – 3×10^{-6} M). Age-matched control mice ($n=6$, \circ); STZ-induced diabetic mice ($n=6$, \bullet); STZ-induced diabetic, cholestyramine-treated mice ($n=6$, \blacktriangle). The ordinate scale represents the relaxation of aortic rings as a percentage of the contraction induced by $\text{PGF}_{2\alpha}$ (10^{-6} – 3×10^{-6} M). Each data point on the graph represents the mean \pm S.E. of six experiments; the S.E. are included only when they exceed the dimension of the symbols used. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

細胞の機能を検討したところ、内皮細胞依存性の弛緩反応は著明に減弱されることが明らかとなった。そこで、著者は上述の成績を基に、糖尿病時における内皮細胞機能低下に関して次のような仮説を提唱している。糖尿病による高血糖は脂質の代謝を促進し、コレステロールの合成を促す。コレステロールが産生されると LDL が増加し、増加した LDL は内皮細胞上で酸化され、酸化 LDL から LPC が遊離され、LPC が内皮細胞の機能を

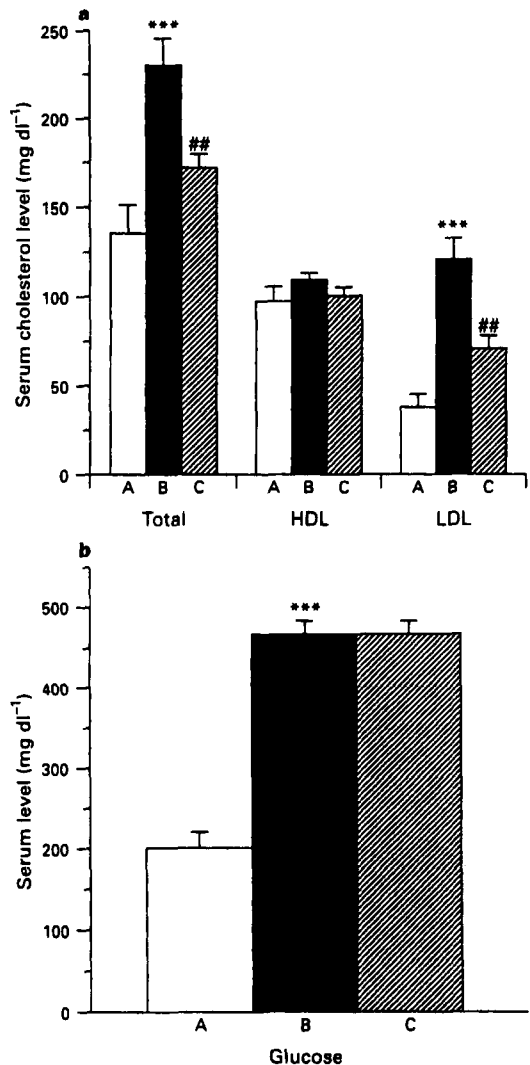


Fig. 6. Effects of cholestyramine on levels of cholesterol and glucose in STZ-induced diabetic mice. STZ-induced mice received cholestyramine (300 mg kg^{-1} , p.o. daily for 10 weeks). (A) ($n=6$) age-matched control mice; (B) ($n=6$) STZ-induced diabetic mice; (C) ($n=6$) STZ-induced diabetic cholestyramine-treated mice. *** $P < 0.001$, diabetic vs. control, ** $P < 0.01$, STZ-diabetic group vs. STZ-diabetic mice receiving drug.

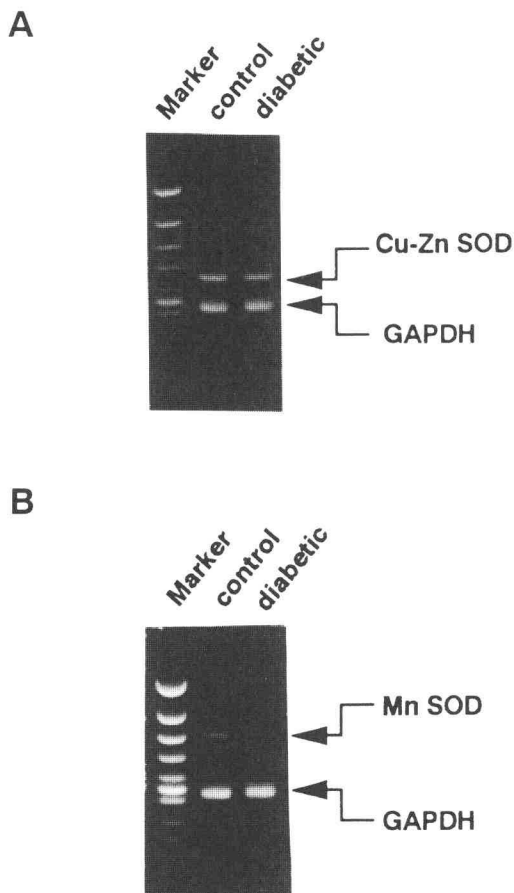


Fig. 7. RT-PCR assay of SOD mRNA expression in control and diabetic rat aorta. (a) Cu-Zn-SOD mRNA expression (447 bp); (b) Mn-SOD mRNA expression (616 bp). Total RNA was extracted as described in Methods. Each total RNA preparation (1.0 μ g) was reverse transcribed and half of the cDNA products was PCR-amplified with each primer, for 25 cycles. A portion of the PCR reaction product was electrophoresed on a 1.5% agarose gel containing ethidiumbromide.

障害し、NO 合成を低下させる。NO の産生が低下すると、血小板が内皮細胞へ粘着するようになり、血栓形成の原因となり、また血管平滑筋の緊張増加による血管収縮、血流低下などの現象が起こる。これらの原因により組織への血流が不全に

なることから、腎臓機能障害、網膜障害、脳梗塞、心筋梗塞などの合併症が誘発されるという仮説である。

5. スーパーオキシドアニオン関連酵素 mRNA 含量の変化²³⁾

糖尿病動物の血管内皮細胞ではスーパーオキシドアニオンが過剰に産生するか、分解速度が遅くなり、スーパーオキシドアニオンが蓄積して、NO の不活性化あるいは LDL の酸化などに関与している可能性がある。事実、ACh を投与して弛緩パターンを観察すると、正常動物では ACh による弛緩反応が持続的であるが、糖尿病では ACh による弛緩反応の持続が短い。ところが、スーパーオキシドアニオンを過酸化水素に変換して不活性化する superoxide dismutase (SOD) を前処置すると、弛緩反応の持続が長くなる。また、糖尿病動物の血管に SOD を投与すると、強い弛緩反応が観察され、この弛緩反応は正常動物のそれより有意に大きいことが観察された。これらのことは、糖尿病動物の血管では、1) スーパーオキシドアニオンの産生が過剰になっているか、2) SOD の活性が低下しているか、SOD の含量が減少しておりスーパーオキシドアニオンの分解が遅いことを強く示唆する。現在まで、糖尿病動物の血管において、キサンチンオキシダーゼあるいは SOD の活性あるいは量を測定した報告は無い。そこで、キサンチンオキシダーゼおよび SOD タンパクの mRNA を PCR 法を用いて測定したところ、糖尿病動物の血管では、キサンチンオキシダーゼタンパク mRNA は変化していなかったが、SOD タンパクの mRNA は著明に減少していた (Figs. 7, 8)。これらの実験成績より、糖尿病動物の血管では SOD タンパクが減少しており、したがって、スーパーオキシドアニオンが過剰となり、NO の分解が促進していることを明らかにしたことになる。さらに、糖尿病動物の血管において、スーパーオキシドアニオンが過剰となることは、上記した LDL をも

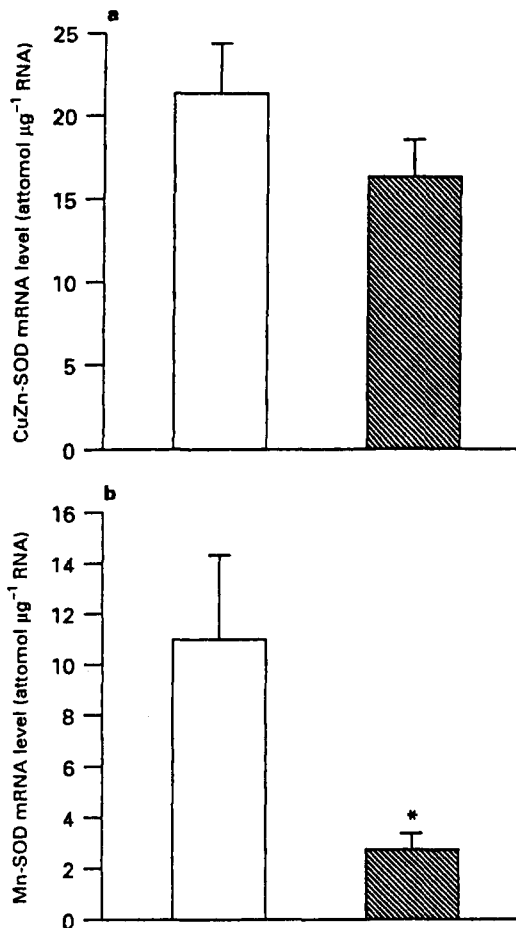


Fig. 8. Changes in (a) Cu-Zn-SOD mRNA and (b) Mn-SOD mRNA levels in age-matched control and STZ-induced diabetic rats by competitive PCR. Total RNA was extracted as described in Methods. Each total RNA preparation ($4.0\mu\text{g}$) was reverse transcribed and 10% portions were amplified in the presence of $2\mu\text{l}$ of MIMIC dilution (10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.3125 attomol μl^{-1} , for 25 cycles). Age-matched control rats ($n=4$, open columns); STZ-induced diabetic rats ($n=4$, hatched columns). Values are mean \pm S.E. of 4 determinations (attomol μg^{-1} RNA). Significantly different from age-matched control, * $P<0.05$.

酸化しやすいことを示唆している。

6. まとめと今後の研究課題

肥満を例にとって、糖尿病の発症とその合併症の発症について考えてみる。そもそも太っているヒトはなぜ糖尿病になりやすいのだろうか？ 報告によると、インスリン非依存型糖尿病患者の約2/3が現在肥満であるかあるいは過去に肥満を経験している。しかし、太っているヒトは皮下脂肪が多いのであってブドウ糖とは関係ないはずではないか？ このような疑問も最近明かにされつつある。太っているヒトは脂肪細胞が多く、また一つの脂肪細胞に大量の脂肪を含んでいるが、これら脂肪細胞は遊離脂肪酸や TNF (tumor necrosis factor) を遊離することが分かってきた。遊離脂肪酸や TNF はインスリンの作用を抑制することによって血中のブドウ糖濃度を上げるのである。事実、インスリン抵抗性を持った各種の肥満動物モデルや肥満者では、脂肪細胞における TNF- α mRNA の発現増加、TNF- α タンパクの増加、血中の TNF- α の増加が報告されている。日本人の糖尿病はほとんど (95%) インスリン非依存型糖尿病であることから、次のような一連の過程が想像される。高カロリー食の摂取と運動不足→脂肪細胞の増加→肥満→脂肪細胞からの TNF- α の遊離→TNF- α によるインスリン作用の抑制→高血糖→血中 LDL の増加→LDL の酸化変性および LPC の遊離→内皮細胞の機能障害→血管障害(血栓形成、血管の炎症、動脈硬化、血管の緊張増加と中膜の肥厚)→臓器における血流障害→各種臓器(網膜、腎臓、神経組織など)の不全→網膜症、腎症、神経障害、脳梗塞などの合併症。したがって、インスリン非依存型糖尿病およびその合併症は上記したいずれかの過程を遮断すればよいことになる。

肥満を例にとって、糖尿病およびその合併症の発症機構の概略を上述したが、上記したことでまだ不明な点が多い。例えば、1) 高血糖状態はどのような機序によって血中 LDL を増加させるの

か、2) 糖尿病動物では LDL は酸化されやすいが、これと高グルコースとどのように相関しているのか、3) 酸化変性された LDL からは LPC が遊離されるが、この物質が本当に内皮細胞機能障害の原因物質か、変性 LDL 自身には内皮細胞に対する機能はないのか、4) 仮に LPC が内皮細胞機能の原因物質だと仮定してもではどのような機序によって、内皮細胞の機能が障害されるのか、等々今後に残された課題は多く、糖尿病性血管障害の発症機構に関しては緒についたばかりの感がある。今後、各種酵素の mRNA 測定、細胞内 Ca^{2+} 測定、平滑筋膜電位測定、細小血管の血管反応性の測定の技術を上げるなど、あらゆる角度から糖尿病性血管障害のより詳細な発症機構について研

究し、研究の精度を上げてゆきたい。最近、著者は腸間膜動脈床において、新しい内皮細胞由来弛緩物質が存在する可能性を見出した²⁴⁾。この物質による弛緩反応は糖尿病によって影響を受けないことも明かにされ²⁵⁾、今後の研究の展開が楽しみである。

謝辞

本研究に対し第5回大谷賞を賜りましたことを、大谷孝吉理事長に厚く感謝申し上げます。また本研究にご協力いただいた機能形態研究室の大学院生および卒業生の皆様に謹んで感謝いたします。

文 献

- 1) Furchgott, R. F. and J. V. Zawadzki. *Nature*, **288**, 373, (1980).
- 2) Moncada, S., R. M. J. Palmer and E. A. Higgs. *Pharmacol. Rev.*, **43**, 109, (1991).
- 3) Kamata, K., N. Miyata and Y. Kasuya. *J. Pharmacobio-Dyn.*, **11**, 707, (1988).
- 4) Kamata, K., N. Miyata and Y. Kasuya. *Br. J. Pharmacol.*, **97**, 614, (1989).
- 5) Kamata, K., N. Miyata and Y. Kasuya. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **249**, 890, (1989).
- 6) Kamata, K., N. Miyata and Y. Kasuya. *Eur. J. Pharmacol.*, **166**, 319, (1989).
- 7) Abiru, T., K. Kamata, N. Miyata and Y. Kasuya. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **68**, 882, (1990).
- 8) Abiru, T., Y. Watanabe, K. Kamata, N. Miyata and Y. Kasuya. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, **68**, 13, (1990).
- 9) Abiru, T., K. Kamata, and Y. Kasuya. *J. Pharmacobio-Dyn.*, **14**, 293, (1991).
- 10) Abiru, T., K. Kamata, and Y. Kasuya. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, **74**, 71, (1991).
- 11) Miyata, N., K. Tsuchida, S. Okuyama, S. Otomo, K. Kamata and Y. Kasuya. *Am. J. Physiol.*, **262**, H1104, (1992).
- 12) Kamata, K., N. Miyata, T. Abiru and Y. Kasuya. *Life Sci.*, **50**, 1379, (1992).
- 13) Miyata, N., H. Yamaura, K. Tsuchida, S. Otomo, K. Kamata and Y. Kasuya. *Life Sci.*, **50**, 1360, (1992).
- 14) Abiru, T., Y. Watanabe, K. Kamata and Y. Kasuya. *Life Sci.*, **53**, PL7, (1993).
- 15) Miyata, N., H. Yamaura, K. Tsuchida, S. Okuyama, S. Otomo, K. Kamata and Y. Kasuya. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **71**, 297, (1993).
- 16) Abiru, T., Y. Watanabe, K. Kamata and Y. Kasuya. *Eur. J. Pharmacol.*, **242**, 15, (1993).
- 17) Endo, K., T. Abiru, H. Machida, Y. Kasuya and K. Kamata. *Gen. Pharmacol.*, **26**, 149, (1995).
- 18) Kamata, K., S. Chikada, F. Umeda and Y. Kasuya. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **26**, 645, (1995).
- 19) Kamata, K., M. Sugiura and Y. Kasuya. *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.*, **90**, 69, (1995).
- 20) Kamata, K., S. Kojima, M. Sugiura and Y. Kasuya. *Jpn. J. Pharmacol.*, **70**, 149, (1996).
- 21) Kamata, K., M. Sugiura and Y. Kasuya. *Br. J. Pharmacol.*, **118**, 352, (1996).
- 22) Kamata, K., M. Sugiura and Y. Kasuya. *Eur. J. Pharmacol.*, **303**, 47, (1996).
- 23) Kamata, K. and T. Kobayashi. *Br. J. Pharmacol.*, (in press).
- 24) Kamata, K., F. Umeda and Y. Kasuya. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **27**, 601, (1996).
- 25) Kamata, K., T. Hayashi and F. Umeda. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, (in press).